

総合論文

イネ出穂期遺伝子の開花前生育相に及ぼす効果の解析

西 田 英 隆

(生物機能開発学講座)

Effects of Heading-time Genes on Pre-flowering Developmental Phases in Rice

Hidetaka Nishida

(Department of Biological Function)

Sixteen heading-time tester lines in rice (*Oryza sativa* L.) for the six loci were subjected to transfer treatments from short (10-h) to long photoperiod (24-h) and *vice versa* at various times. Using an analytical model, we estimated seven parameters for the three pre-flowering developmental phases of each line: the basic vegetative phase (BVP), the subsequent photoperiod-sensitive phase (PSP), and the post photoperiod-sensitive phase until heading (PPP). The *Se1* locus was found to have an extremely strong effect on PSP; *Efl*, a slight effect on BVP and a considerable effect on PPP; and *El*, a considerable effect on PSP, although their effects were modified by nonallelic interactions at these three loci. The effects of three other loci were almost negligible. Subsequently, two late-heading mutant lines HS169 and HS276 with an extremely long basic vegetative growth (BVG: days to heading under short photoperiod) period conferred by a recessive mutant gene *efl-h* and a novel gene *ef2*, were subjected to photoperiodic transfer treatments. Both mutant genes were found to increase BVP and PPP markedly by themselves, whereas *efl* required nonallelic interaction with the *Se1* locus. Based on the results, causal genetic pathways to flowering in rice and the significance of *efl-h* and *ef2* in recent rice breeding in the low latitudes were discussed.

Key words : rice, pre-flowering developmental phase, BVP, PSP, PPP

緒 言

花成（栄養生長から生殖生長への転換）は植物の適応性に関わる重要な形質である。双子葉のモデル植物シロイヌナズナでは花成期および花器形成に関わる遺伝子が多数同定・単離され、その生理学的作用および生化学的機能が明らかにされている⁹⁾。また、これら遺伝子の単独の作用および相互作用に基づき、花成期の遺伝学的経路のモデルが構築されている^{9,18,23)}。

一方、単子葉のモデル植物イネにおいても、出穂（開花）期に関する遺伝子^{5,19,26,28,32)}および QTL³⁰⁾が多数検出されているが、それらの生理学的作用および生化学機能はほとんど明らかにされていない。最近、これらのうち数個の遺伝子が単離され、*Se1* (*Hd1*) および *Hd3a* はそれぞれシロイヌナズナの長日応答経路に重要な遺伝子 *CONSTANS* (*CO*) および *FLOWERING LOCUS T* (*FT*) のオーソログであること^{7,29)}、*Se5* はフィトクロム発色団の生合成に関わるヘムオキシゲナーゼをコードす

ること⁹⁾、および *Hd6* は CK2 α サブユニットタンパク質をコードすること²⁵⁾が明らかにされた。しかし、出穂期に関する遺伝学的経路のモデルを構築するためには、まず各遺伝子の作用および遺伝子間の相互作用を明らかにする必要がある。

イネの発芽から出穂までの生育期間（開花前生育相）は、発芽直後の日長に反応しない基本栄養生長相 (BVP: basic vegetative growth phase)、長日に反応して出穂を遅らせる、あるいは短日に反応して出穂を促進させる感光相 (PSP: photoperiod-sensitive phase)、および幼穂分化から出穂までの生殖生長相 (RP: reproductive phase) に分けられる²⁷⁾。各生育相の長さは遺伝的に支配されているが、これまでに同定されている遺伝子座の大半は感光相に関わるものである。なかでも、*Se1* 座は *El* 座、*Su-Se1* 座、*En-Se1* 座、*i-Se1* 座、*Se3* 座、および *Hd2* 座と相互作用することが明らかにされてい

Received October 1, 2004

る^{12,14,19,21,22,30}。一方、基本栄養生長相の長さに関わる遺伝子座は染色体10上の *Ef1* のみであり²⁶、他の遺伝子座との相互作用は知られていない。

Yin ら³¹は多数のイネ品種を供試して、播種後の様々な時期に長日から短日および短日から長日への日長条件の移行処理を行い、それらの出穂反応をもとに、非線形回帰分析を行った。その結果、従来推定が困難であった基本栄養生長相 (BVP)、長日条件下における感光相 (PSP_L；長日による遅延の日数)、短日条件下における感光相 (PSP_S；花成誘導に必要な短日の日数)、および感光相の後の不感光相 (PPP：post photoperiod-sensitive phase；生殖生長相に相当する)の長さを推定することができた。しかし、出穂期遺伝子の開花前生育相に及ぼす作用は未だ明らかにされていない。

シロイヌナズナにおいて、花成期遺伝子の生理学的作用および遺伝子間相互作用の解析を通して花成に関わる遺伝経路のモデルを構築できた要因のひとつは、種々の生態型で多数の突然変異株を利用できたことである^{9,23}。逆に、イネにおいて出穂期遺伝子の作用がほとんど解析されていないのは、同種の解析に利用できる突然変異系統がほとんどないことが原因のひとつに挙げられる。

以上の観点から、本研究では、まず既知の出穂期遺伝子座 *Se1*, *Ef1*, および *E1* が各生育相の長さに関与する作用を明らかにする。次に、品種銀坊主のガンマ線種子照射後代に得られた多数の突然変異系統のうち、基本栄養生長相が著しく長い突然変異系統を用いて遺伝子分析および変異遺伝子の作用解析を行い、これまでにほとんど明らかにされていない基本栄養生長相の遺伝機構を解析する。得られた結果に基づき、イネの花成に関わる遺伝経路について考察する。

材料および方法

1. 既知出穂期遺伝子座の開花前生育相に及ぼす作用

6 出穂期遺伝子座 (*Se1*, *Ef1*, *E1*, *E2*, *E3*, *U*) に関する16検定系統を供試した (Table 1)。これら遺伝子座のうち、*Se1* 座、*Ef1* 座、および *E1* 座は品種の地域適応性にきわめて重要な役割を果たしていることが明らかにされつつある^{5,15,16,32}。*Se1* 座 (染色体6) には複対立遺伝子が存在し、感光性遺伝子 *Se1-n* および *Se1-u* (本章ではまとめて *Se1* と表記) は弱感光性遺伝子 *Se1-e* (同じく *se1* と表記) と比べて、感光相をきわめて長くさせる³²。同座は基本栄養生長相にも作用し、*se1* は *Se1* と比べてわずかの増大作用をもつ³²。*Ef1* 座 (染色体10) の劣性遺伝子 *ef1* は、優性遺伝子 *Ef1* と比べて、基本栄養生長相を著しく長くさせる²⁶。*E1* 座 (染色体7) の優性遺伝子 *E1* は、劣性遺伝子 *e1* と比べて、感光相を長くさせる^{13,28}。*E2* および *E3* 座の優性遺伝子は感光相を長く²⁸、*U* 座の優性遺伝子は感光相を短くさせる¹⁶、前述の3座と比べて作用はかなり小さい。

Table 1 Genotypes of 16 heading-time tester lines for the six heading-time loci

Line	Genotype					
(Group 1: <i>-/se1/Ef1</i>)						
ER	<i>E1</i>	<i>e2</i>	<i>E3</i>	<i>se1</i>	<i>Ef1</i>	<i>U</i>
T65Ef1	<i>E1</i>	<i>E2</i>	<i>E3</i>	<i>se1</i>	<i>Ef1</i>	<i>u</i>
T65e1Ef1	<i>e1</i>	<i>E2</i>	<i>E3</i>	<i>se1</i>	<i>Ef1</i>	<i>u</i>
(Group 2: <i>-/se1/ef1</i>)						
T65	<i>E1</i>	<i>E2</i>	<i>E3</i>	<i>se1</i>	<i>ef1</i>	<i>u</i>
T65e1	<i>e1</i>	<i>E2</i>	<i>E3</i>	<i>se1</i>	<i>ef1</i>	<i>u</i>
(Group 3A: <i>E1/Se1/Ef1</i>)						
EG1	<i>E1</i>	<i>e2</i>	<i>e3</i>	<i>Se1</i>	<i>Ef1</i>	<i>u</i>
EG4	<i>E1</i>	<i>E2</i>	<i>e3</i>	<i>Se1</i>	<i>Ef1</i>	<i>u</i>
EG6	<i>E1</i>	<i>e2</i>	<i>E3</i>	<i>Se1</i>	<i>Ef1</i>	<i>u</i>
EG7	<i>E1</i>	<i>E2</i>	<i>E3</i>	<i>Se1</i>	<i>Ef1</i>	<i>u</i>
LR	<i>E1</i>	<i>e2</i>	<i>E3</i>	<i>Se1</i> [‡]	<i>Ef1</i>	<i>U</i>
(Group 3B: <i>e1/Se1/Ef1</i>)						
EG0	<i>e1</i>	<i>e2</i>	<i>e3</i>	<i>Se1</i>	<i>Ef1</i>	<i>u</i>
EG2	<i>e1</i>	<i>E2</i>	<i>e3</i>	<i>Se1</i> [†]	<i>Ef1</i>	<i>u</i>
EG3	<i>e1</i>	<i>e2</i>	<i>E3</i>	<i>Se1</i>	<i>Ef1</i>	<i>u</i>
EG5	<i>e1</i>	<i>E2</i>	<i>E3</i>	<i>Se1</i>	<i>Ef1</i>	<i>u</i>
(Others)						
EL11	<i>E1</i>	<i>e2</i>	<i>E3</i>	<i>Se1</i>	<i>Ef1</i>	<i>U</i>
EL30 [§]	<i>E1</i>	<i>E2</i>	<i>E3</i>	<i>Se1</i>	<i>ef1</i>	<i>u</i>

These lines used have the same allelic constitution for other heading-time loci.

* Basic vegetative growth expressed by days to heading under short photoperiod (10-h).

† Photoperiod sensitivity expressed by the difference of days to heading between long photoperiod (14-h) and short photoperiod (10-h).

‡ LR carries *Se1-u* (*Se1-u* has a slightly stronger effect on PS than *Se1-n*).

§ EL30 did not head even 160 days after sowing, although panicle initiation started.

各系統の種子は消毒・吸水の後、ワグネルポットの培土中に播種した。各系統の個体数は処理区あたり約10個体/ポット、処理区は12とした。はじめに長日 (24時間日長) および短日 (10時間日長) 条件下にそれぞれ12ポット/系統を配置し、播種後10日目に長日条件下のポット1個を短日条件下に、また短日条件下のポット1個を長日条件下に移し、出穂まで同じ条件で栽培した。同様の処理を以後約7日毎に、播種後70日目まで行った。

各生育相の長さは、日長条件移行処理に対する出穂反応が Fig. 1 のモデル³¹に従うとの仮定のもとに、以下の式(1)~(4)を用いて非線形回帰分析を行うことにより推定した。解析にはソフトウェア Sigastat 5.0を用いた。

$$DH = BVG + Z_1PSP_S b / (1 - b) \quad (t < BVP \text{ のとき}) \quad (1)$$

$$DH = BVG + (Z_0b - Z_1b (1 - b)) (t - BVP - Z_1PSP_S) \quad (BVP < t < BVP + PSP_S \text{ のとき}) \quad (2)$$

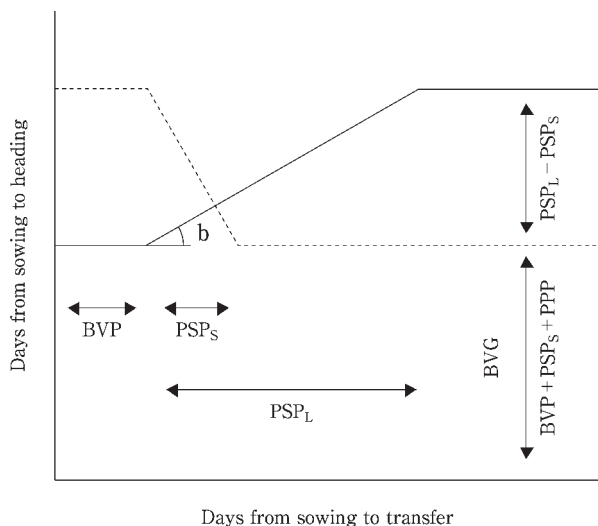


Fig. 1 Schematic representation of heading responses of the plants transferred from long photoperiod (LP) to short photoperiod (SP) (solid line) and those from SP to LP (broken line) at various times after sowing. Arrows indicate the durations of the basic vegetative phase (BVP), photoperiod-sensitive phase under short photoperiod (PSP_s), and that under long photoperiod (PSP_L), post photoperiod-sensitive phase (PPP), and basic vegetative growth (BVG) period. b indicates regression coefficient of days to heading during photoperiod-sensitive phase on days from sowing to transfer treatment from LP to SP.

$$DH = BVG + Z_0 b (t - BVP) \quad (3)$$

($BVP + PSP_s < t < BVP + PSP_s / (1 - b)$
のとき)

$$DH = BVG + Z_0 PSP_s b / (1 - b) \quad (4)$$

($BVP + PSP_s / (1 - b) < t$ のとき)

PSP_L および PPP は以下の式(5)および(6)を用いて算出した。

$$PSP_L = PSP_s / (1 - b) \quad (5)$$

$$PPP = BVG - BVP - PSP_s \quad (6)$$

DH: 到穂日数, BVG: 短日条件下における到穂日数, BVP: 基本栄養生長相の長さ, PSP_L : 長日条件下における感光相の長さ, PSP_s : 短日条件下における感光相の長さ, PPP: 感光相の終了から出穂までの不感光相の長さ, t : 播種後移行処理迄日数, b : 感光性の強さ, Z_0 および Z_1 : ダミー変数. 長日から短日への移行処理区では $Z_0 = 1$ および $Z_1 = 0$, 短日から長日への移行処理区では $Z_0 = 0$ および $Z_1 = 1$ とする。

2. 基本栄養生長相の長さを著しく増大させる突然変異遺伝子の解析

晩生突然変異系統 HS169 および HS276 は, 品種銀坊主のガンマ線種子照射後代に得られた系統であり, それぞれ 1 個の劣性突然変異遺伝子をもつ. 日長処理実験は, HS169, HS276, 原品種銀坊主, および *Efl* 座および *SeI*

座に関する検定系統 6 系統を供試し, 5 種類の日長 (10, 13, 14, 15, および 16 時間日長) 条件下における到穂日数を調査した. 消毒・催芽は前述と同様の方法で行った. 個体数は処理区当たり 5 個体/ポット, 反復数は 4 とした. 遺伝子分析には, HS169 および HS276 と銀坊主, *SeI* 座に関する検定系統, および *Efl* 座に関する検定系統との F_2 を供試し, 到穂日数に関する分離分析を行った. なお, これらの F_2 は感光性が発現せず, 基本栄養生長相の分離のみが観察できる短日 (10 時間日長) 条件下で栽培した. 変異遺伝子と *SeI* 座の遺伝子の対立性検定には, *SeI* 座と組換え価 1.8% で連鎖するアイソザイム遺伝子座 *Pgi2*¹¹⁾ を利用した. 検出した変異遺伝子の作用を解析するために, 前述の日長条件移行処理を行った.

結果および考察

1. 既知出穂期遺伝子座の開花前生育相に及ぼす作用

16 検定系統は日長条件移行処理に対する出穂反応に基づき 3 グループに大別できた (Fig. 2). 「BVP・短, b ・小」のグループ (グループ 1) は遺伝子型が *seIseI/EflEfl* の系統 (ER, T65Efl, T65eIEfl), 「BVP・長, b ・小」のグループ (グループ 2) は遺伝子型が *seIseI/eflefl* の系統 (T65, T65eI), 「BVP・短, b ・大」のグループ (グループ 3) は遺伝子型が *SeISeI/EflEfl* の系統 (EG1 ~ EG7, LR) で構成され, 各グループの出穂反応は遺伝子型から予想される表現型と一致した. この結果はまた, 6 座の中で *SeI* 座および *Efl* 座がきわめて大きな作用をもつことを示している. しかし, EL30 は遺伝子型が *SeISeI/eflefl* であるため, 表現型は「BVP・長, b ・大」であることが期待されたが, それとは異なり, グループ 3 と同じ反応を示した. このことは, *SeI* 座と *Efl* 座との間に相互作用が存在することを示唆している. グループ 3 はさらに, b ・大 (グループ 3 A; *EIEI* 系統) と b ・中 (グループ 3 B; *eIeI* 系統) のグループに分けられた.

出穂反応の非線形回帰分析を行ったところ, 10 系統 (EG0, EG2, EG3, EG5, EL11, ER, T65Efl, T65eIEfl, T65, T65eI) では BVP, PSP_L , PSP_s , b , および PPP を推定できたのに対し, 6 系統 (EG1, EG4, EG6, EG7, LR, EL30) では BVP および b のみであった (Table 2). 次に, これらパラメーターを用いて遺伝子の作用を評価した. 本稿では主に, 作用の大きかった *SeI* 座, *Efl* 座, および *EI* 座について述べる.

SeI 座の作用を推定するため, 同遺伝子座のみ遺伝子型を異にし, 他の出穂期遺伝子型は同一の系統間でパラメーターを比較した. ER, T65Efl, および T65eIEfl (*seI* をもつ) は, それぞれ LR, EG7, および EG5 (*SeI* をもつ) と比較すると, いずれも b が著しく小さかった. しかも, *seI* による b の減少効果は, *EI* を併せもつ場合 (ER と LR および T65Efl と EG7 の比較) の 35%

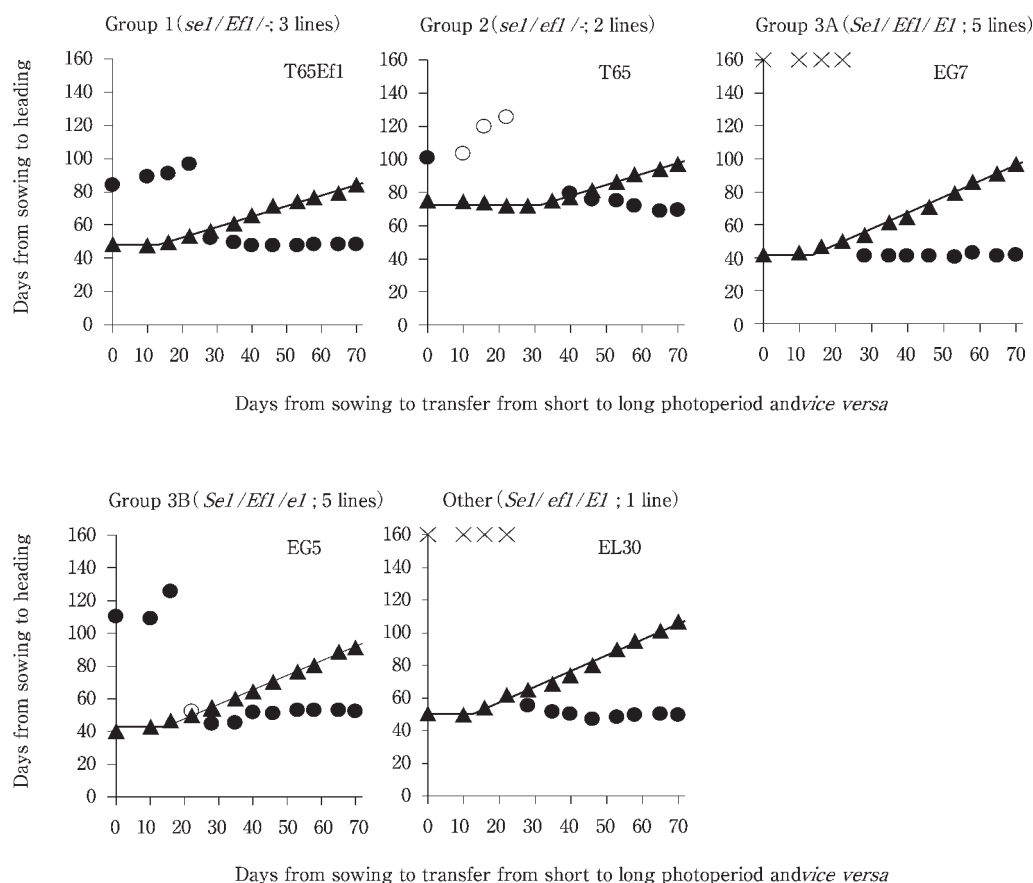


Fig. 2 Representative heading responses of 16 heading-time tester lines to transfer treatments from short (SP; 10-h) photoperiod to long (LP; 24-h) photoperiod (circles) and vice versa (triangles) at various times after sowing. Closed triangles and circles indicate that all plants headed within the experimental period (160 days). Open circles indicate the average days to heading in the treatments where non-heading plants were observed, while crosses indicate that no plants headed.

程度と比べて、*ef1* を併せもつ場合 (T65e1Ef1 と T65e1 の比較) には39%と大きかった。これは *Se1* 座と *E1* 座の間には感光相に関して相互作用のあることを示しており、Okumoto らの報告¹⁴⁾と一致する。また、*se1* をもつ系統は、*Se1* をもつ系統と比較して、BVP がわずかに (約2日) 長かったことから、*Se1* 座は感光相だけでなく基本栄養生長相にも作用することが示唆された。この結果は、Yokoo and Kikuchi の報告³²⁾と一致する。

同様にして、*Ef1* 座の作用を推定した。T65 および T65e1 (*ef1* をもつ) の BVP は、それぞれ T65Ef1 および T65e1Ef1 (*Ef1* をもつ) と比べて、約2倍と長くなっていたのに対して、EL30 (*ef1* をもつ) と EG7 (*Ef1* をもつ) の BVP はほぼ同じであった。T65 NILs (T65, T65Ef1, T65e1, および T65e1Ef1) は *se1* を、EL30 と EG7 は *Se1* をもつことから、*ef1* は *se1* と共存した場合のみ BVP を著しく長くさせる、すなわち、*ef1* と *se1* の間には補足作用が存在するものと考えられた。また、T65 NILs 間の比較から、*ef1* は (*se1* との共存下で) PPP を2倍以上長くさせることおよび感光相の長さを短くさせる傾向

のあることが認められた。したがって、*Ef1* 座は基本栄養生長相のみでなく、感光相および感光相終了後の不感光相にも作用することが明らかとなった。以上の結果が示すように、*Se1* 遺伝子は単独の作用および他の遺伝子との相互作用を通じて出穂期に効果を及ぼすという点でシロイヌナズナと同祖遺伝子 *CO* と似ており、*CO* と同様にイネの出穂期に関わる遺伝経路のキー遺伝子のひとつであると考えられた。

EG1, EG4, EG6, および EG7 (*E1* をもつ) は、それぞれ EG0, EG2, EG3, および EG5 (*e1* をもつ) と比べて *b* が大きく、*E1* と *E2* および *E3* を併せもつ系統では相加効果により一層大きかった。この結果は、*E1* 座は感光相に作用するとの報告²⁸⁾と一致する。しかし、*E1* をもつ系統の BVP は *e1* をもつ系統よりも長く、同時に *E3* を併せもつ場合は逆に *E1* をもつ系統よりも *e1* をもつ系統の方が長かった。このことは、*E1* 座は感光相のみでなく、単独の作用または *E3* 座との相互作用により、基本栄養生長相にも影響を及ぼすことを示唆している。

Table 2 Estimated values of the duration of the basic vegetative phase (BVP), days from sowing to heading (DH) under short (10-h) photoperiod (SP) (BVG), duration of photoperiod-sensitive phase under SP (PSP_s), regression coefficient of DH during photoperiod-sensitive phase (PSP) on days from sowing to transfer treatment from long (24-h) photoperiod (LP) to SP (b), duration of photoperiod-sensitive phase under LP (PSP_L), and duration of post photoperiod-sensitive phase (PPP)

Line	BVP ± s.e.	BVG ± s.e.	PSP _s * ± s.e. [†]	b ± s.e.	R ² ‡	PSP _L	PPP
(Group 1: <i>se1/Ef1</i> /-)							
ER	16.0 ± 2.67	49.5 ± 0.55	17.9 ± 4.12	0.60 ± 0.05	0.981	44.2	15.7
T65Ef1	13.3 ± 1.49	48.1 ± 0.47	22.1 ± 2.36	0.64 ± 0.02	0.994	60.9	12.6
T65e1Ef1	16.4 ± 3.04	48.8 ± 0.46	20.5 ± 4.05	0.47 ± 0.05	0.971	38.6	11.8
(Group 2: <i>se1/ef1</i> /-)							
T65	31.9 ± 2.21	72.3 ± 0.56	15.6 ± 2.86	0.66 ± 0.04	0.978	45.2	24.8
T65e1	30.2 ± 2.03	70.8 ± 0.54	10.6 ± 2.40	0.76 ± 0.04	0.982	44.3	30.0
(Group 3A: <i>Se1/Ef1/E1</i>)							
EG1	14.5 ± 1.30	44.2 ± 0.59	— ± —	0.91 ± 0.03	0.993	—	—
EG4	14.5 ± 0.97	43.7 ± 0.41	— ± —	0.95 ± 0.02	0.995	—	—
EG6	14.4 ± 0.63	43.3 ± 0.28	— ± —	0.95 ± 0.02	0.998	—	—
EG7	13.5 ± 1.06	41.5 ± 0.46	— ± —	0.96 ± 0.03	0.995	—	—
LR	12.5 ± 1.08	43.4 ± 0.48	— ± —	0.92 ± 0.02	0.996	—	—
(Group 3B: <i>Se1/Ef1/e1</i>)							
EG0	11.7 ± 0.86	40.7 ± 0.33	9.4 ± 1.66	0.88 ± 0.02	0.998	77.1	19.6
EG2	13.4 ± 1.01	42.2 ± 0.40	8.5 ± 2.12	0.90 ± 0.02	0.998	81.4	20.3
EG3	15.0 ± 0.93	43.0 ± 0.38	7.1 ± 0.98	0.90 ± 0.01	0.997	69.1	20.9
EG5	14.4 ± 1.28	42.7 ± 0.59	8.9 ± 1.57	0.88 ± 0.02	0.997	75.9	19.5
(Others)							
EL11	14.2 ± 1.01	43.1 ± 0.46	7.0 ± 2.31	0.92 ± 0.02	0.998	89.1	21.8
EL30	12.7 ± 1.30	49.6 ± 0.60	— ± —	0.96 ± 0.03	0.994	—	—

* Not estimated due to the large standard error of PSP_s.

† Standard error.

‡ Contribution ratio due to regression.

2. 基本栄養生長相の長さを著しく増大させる突然変異遺伝子の解析

晩生突然変異系統 HS169, 同 HS276, および7検定系統の BVG(10時間日長条件下における到穂日数: 基本栄養生長相と感光相後不感光相を合わせた日数に相当)を比較したところ, HS169が103日で最も長く, HS276は59.4日, 原品種銀坊主は44.4日であった (Fig. 3). HS169および HS276は1個の劣性突然変異遺伝子をもつことから, それぞれの変異遺伝子の BVG 増大効果は61.0日および17.4日と推定された. これに対し, *ef1/Se1-e* 系統 (T65) は *Ef1/Se1-e* 系統 (T65Ef1) より43.0日, *ef1/Se1-n* 系統 (EL30) は *Ef1/Se1-n* 系統 (EG7) より12.3日長い BVG を示すことが認められ, *ef1* の BVG 増大効果は, *Se1-e* によって著しく高められる (約3.6倍) こと, しかし, HS169の変異遺伝子の BVG 増大効果は, *Se1-e* と *ef1* の補足効果より約40%も大きいことが明らかになった. また, HS276の変異遺伝子の BVG 増大効果は *ef1* の単独効果よりも大きかった.

次いで, HS169の変異遺伝子と *Se1* 座の遺伝子との対立性を調べるために, HS169と銀坊主および *Se1* 座に関する検定系統 LR との交雑 F₂集団を用いて遺伝子分析

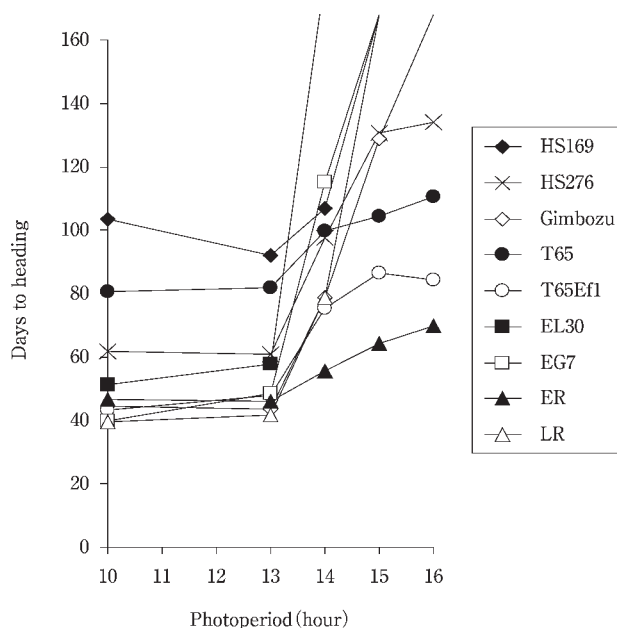


Fig. 3 Days to heading of HS169, HS276, and seven heading-time tester lines under five (10, 13, 14, 15, and 16-h) photoperiods.

を行ったところ、2集団ともよく似た頻度分布を示し、早生型と晩生型とが約3:1に分離した(Fig. 4 A, B). 10時間日長条件下では、感光性遺伝子の分離は観察されないで、この分離は変異遺伝子座におけるものと考えられた。さらに、HS169 × LR の交雑 F₂ に関して、全個体を *Pgi2* 遺伝子型別に分類したところ、遺伝子型間で出穂期の頻度分布は異ならなかった(Fig. 4 B). *Pgi2*-1 は *Se1*-n と密接連鎖していることから、これらの結果は、変異遺伝子と *Se1*-n とは独立であり、HS169は原品種と同様 *Se1*-n をもつこと、および変異遺伝子の BVG 増大効果は、*efl* とは異なり、*Se1* 座の遺伝子型に依存しないことを示している(注、*Se1*-e と共存しても変わらない)。また、HS169 と *Efl* 座に関する検定系統 EL 30 との交雑 F₂ では、早生型と晩生型が約3:1に分離し、明瞭な超越分離個体は認められなかった(Fig. 4 C)。同じく *Efl* 座に関する検定系統 T65 との交雑 F₂ では、*efl*/*Se1*-n (EL30) 型と推定される早生超越分離個体が出現したが、*Efl*/*Se1*-n (銀坊主) 型と同じ到穂日数をもつ早生超越分離個体は出現しなかった(Fig. 4 D)。これらのことは、HS169の突然変異遺伝子 (*efl*-h と命名) は *efl* と対立関係にあることを示している。

HS276について同様に *Se1* 座との対立性検定を行ったところ、変異遺伝子は *Se1* 座の遺伝子と独立であることが明らかになった (Fig. 5 A)。 *Efl* 座に BVG 増大遺

伝子 *efl*-h をもつ HS169 との F₂ は、原品種銀坊主と同じ到穂日数を示す早生超越分離個体を多数分離したことから (Fig. 5 B), 変異遺伝子は *efl*-h と独立であることが示された。したがって、HS276の突然変異遺伝子 (*ef2* と命名) は *Efl* 座および *Se1* 座のいずれにも座乗しない、新規の BVG 増大遺伝子であると結論された。

HS276, HS169, および *Efl* 座の2検定系統 (T65 および T65Efl) に日長条件移行処理を行い、基本栄養生長相の長さ (BVP) および感光性の強さ (*b*) を推定した (Fig. 6)。BVG の長さは、HS169が35.8日で最も長く、HS276は27.7日で T65 とほぼ同じであった。しかし、*ef2* の BVG 増大効果は11.1日 (銀坊主との比較) と推定され、T65 の *efl* の6.7日 (T65Efl との比較) より大きかった。また HS276および HS169の感光性の強さは銀坊主とほぼ同じであり、*ef2* および *efl*-h は感光性にほとんど影響を及ぼさないと考えられた。*ef2*, *efl*-h, および *efl* の BVG 増大効果は到穂日数増大効果ほど大きくなかったが、このことはこれら3遺伝子が感光相終了後の不感光相 (PPP) を増大させる効果を併せもつことを示している。

最近、短日条件下で出穂を促進させる染色体10上の原因遺伝子 *Ehd1* が単離された¹⁾。この遺伝子は座乗位置および作用から *Efl* と同座の遺伝子であると考えられる。しかし、*Ehd1* の発現は短日条件下において概日リズムを示し、長日条件下において発現量は著しく減少すること、

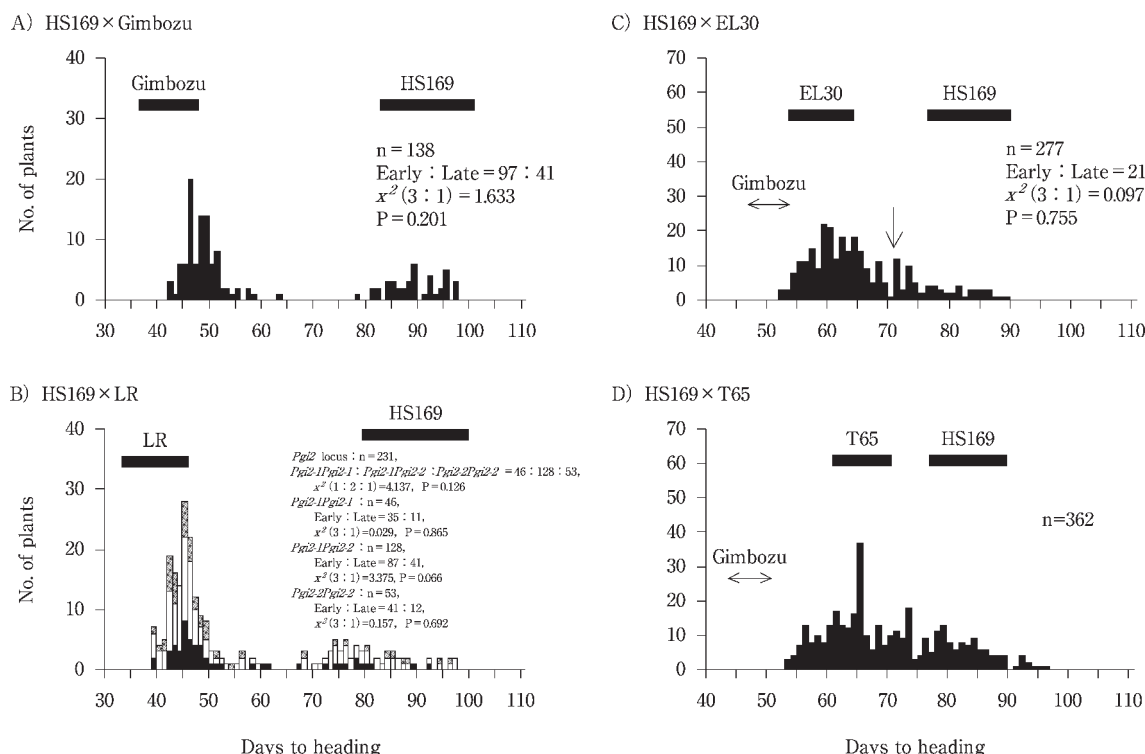
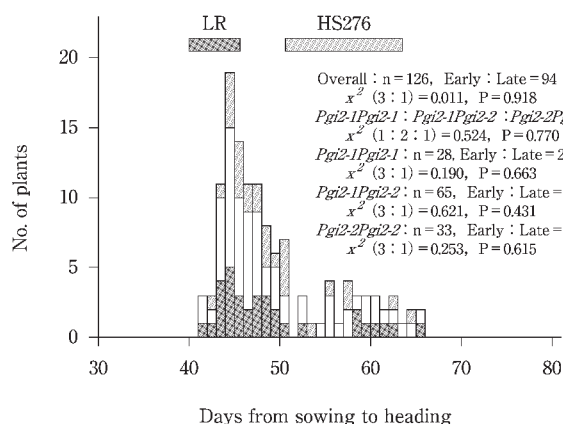


Fig. 4 Frequency distributions of days to heading in the F₂ populations from crosses of HS 169 × Gimbozu (A), HS 169 × LR (B), HS 169 × EL 30 (C), and HS 169 × T65 (D) under short (10-h) photoperiod. In the F₂ of HS 169 × LR, plants with a genotype *Pgi2*-1 *Pgi2*-1, *Pgi2*-1 *Pgi2*-2, and *Pgi2*-2 *Pgi2*-2 are indicated by black, white, and gray bars, respectively.

A) HS276×LR



B) HS276×HS169

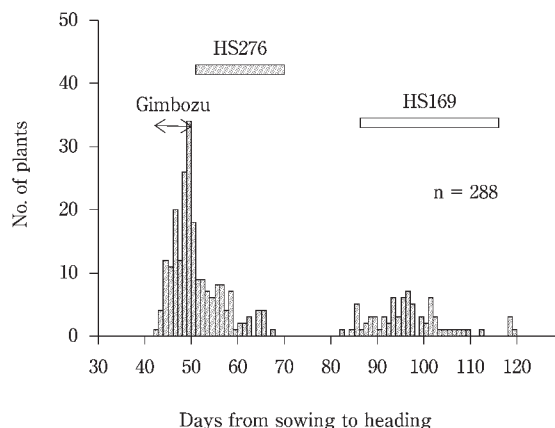


Fig. 5 Frequency distribution of days to heading under a 10-h photoperiod in the F_2 populations from the crosses HS276×LR (A) and HS276×HS169 (B). In the F_2 of HS276×LR, plants with a genotype of *Pgi2-1Pgi2-1*, *Pgi2-1Pgi2-2*, and *Pgi2-2Pgi2-2* are indicated by striped, white, and black bars, respectively.

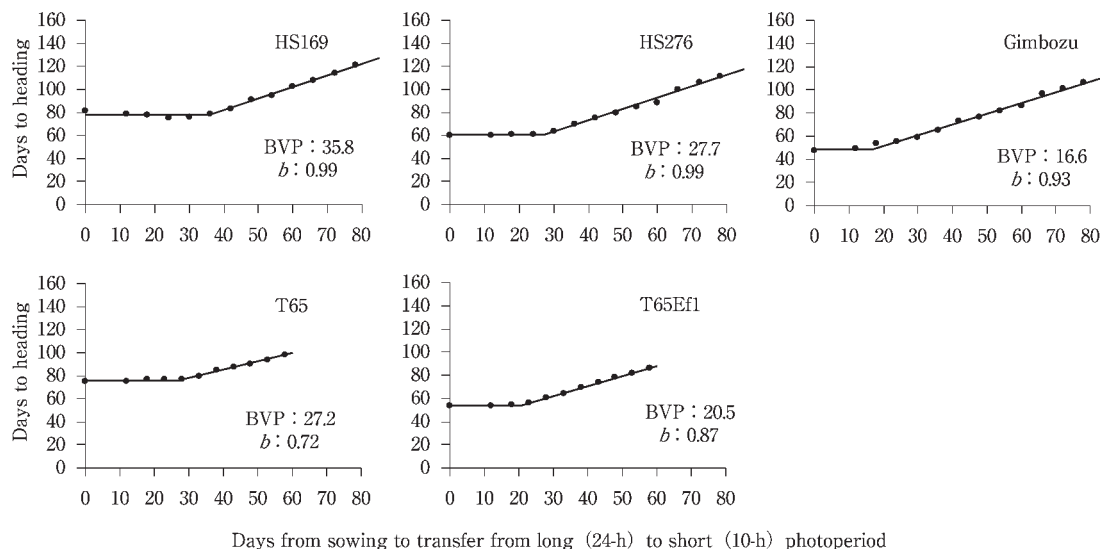


Fig. 6 Heading response of two mutant lines, HS276 and HS169, the original cultivar Gimbozu, and two heading-time tester lines, T65 and T65Ef1, to transfer treatments from long photoperiod (24-h) to short photoperiod (10-h) at various times after sowing. Two parameters, BVP (the duration of basic vegetative phase) and b (the regression coefficient during photoperiod-sensitive phase) were estimated by non-linear regression analysis.

Hd3a (シロイヌナズナ *CO* の下流の日長反応性遺伝子 *FT* のオーソログ⁷⁾) を誘導すること, および *Ehd1* のコードする B-type response regulator はフィトクロムあるいはホルモンが関与するシグナル伝達系で働くと考えられることから, この遺伝子は従来考えられていたように日長非依存的に作用するのではなく, 短日条件に应答して作用するものと考えられている. また, *Ehd1* は *Hd1* (*Se1*) と独立に働くと考えられているが¹⁾, 本研究では *Ef1* 座の突然変異遺伝子 *ef1-h* は *Se1* 座の遺伝子型には依存せずに, 一方 *ef1* は *Se1-e* と共存する場合のみに BVP を長くさせており, *Ef1* 座と *Se1* 座との間に何らかの相

互作用が存在するものと考えられた. 今後は, 両座の相互作用をより詳細に解析するとともに短日応答の遺伝機構を解析する必要がある, 本研究で見出された *Ef1* 座の *ef1-h* および新規遺伝子座 *Ef2* 座の *ef2* はきわめて有用であると考えられる. また, これらの変異遺伝子は基本栄養生長相を著しく増大するが感光相に及ぼす効果は小さいことから, 基本栄養生長相極長・感光性極弱品種が求められる低緯度地方のイネ育種に, 貴重な遺伝子資源になると考えられた.

数多くの植物種で DNA マーカーの開発および EST 情報の収集が行われており, 異種植物のゲノム構造を比

較することが可能になりつつある。その結果、異種植物のゲノム間には染色体ブロックと呼ばれる、遺伝子およびマーカー配置が保存された領域が多数見出され、それらが染色体上に散在していることが明らかにされた⁴⁾。このため、異種植物のマップ情報および塩基配列情報を利用することができるようになり、目的遺伝子のマッピングおよび単離が迅速に進められると期待されている。イネ科植物では多くの比較マップが作成されており^{8,10,17)}、6倍体コムギでは全染色体上にイネの染色体ブロックが位置づけられているほか^{20,24)}、コムギとオオムギの同祖染色体は高いシンテニーを示すことが明らかにされている²⁾。イネの感光性遺伝子 *Hd2* の座乗する染色体7領域は、比較マップ情報に基づき、オオムギ染色体2H上の領域に位置づけられた³⁾。従来、その近傍には日長反応性遺伝子 *Ppd-H1* が座乗することが知られており、現在、この遺伝子の解析が行われている。イネ染色体3上の感光性遺伝子 *Hd6* は *CK2α* をコードしているが²⁵⁾、オオムギの該当領域に日長反応性遺伝子が存在すること、およびコムギの該当領域には *CK2α* およびフィトクロム遺伝子 *PHYC* が存在することが明らかになっている。著者らはオオムギおよびコムギにおいて同遺伝子の解析を進めているところである。このように、イネ科植物のマップ情報および塩基配列情報を利用することで、従来は解析が困難であったオオムギおよびコムギにおける出穂期の遺伝機構の解明のみならず、比較ゲノム学のアプローチにより、出穂開花期の遺伝機構の進化学的解析が可能になると考えられる。また、得られた成果は、イネ科作物の育種に大きく貢献するものと期待される。

文 献

- Doi, K., T. Izawa, T. Fuse, U. Yamanouchi, T. Kubo, Z. Shimatani, M. Yano and A. Yoshimura : *Ehd1*, a B-type response regulator in rice, confers short-day promotion of flowering and controls *FT-like* gene expression independently of *Hd1*. *Genes & Development*, **18**, 926-936 (2004)
- Dubcovsky, J., M. C. Luo, G. Y. Zhong, R. Bransteitter, A. Desai, A. Kilian, A. Kleinhofs and J. Dvůřák : Genetic map of diploid wheat, *Triticum monococcum* L., and its comparison with maps of *Hordeum vulgare* L.. *Genetics*, **143**, 893-999 (1996)
- Dunford, R. P., M. Yano, N. Kurata, T. Sasaki, G. Huetis, T. Rocheford and D. A. Laurie : Comparative mapping of the barley *Ppd-H1* photoperiod response gene region, which lies close to a junction between two rice linkage segments. *Genetics*, **161**, 825-834 (2002)
- Feuillet, C. and B. Keller : Comparative genomics in the grass family : molecular characterization of grass genome structure and evolution. *Ann. Bot.*, **89**, 3-10 (2002)
- Ichitani, K., Y. Okumoto and T. Tanisaka : Genetic analysis of low photoperiod sensitivity of rice cultivars from the northernmost regions of Japan. *Plant Breed*, **117**, 543-547 (1998)
- Izawa, T., T. Oikawa, S. Tokutomi, K. Okuno and K. Shimamoto : Phytochromes confer the photoperiodic control of flowering in rice (a short-day plant). *Plant J.*, **22**, 391-399 (2000)
- Kojima, S., Y. Takahashi, Y. Kobayashi, L. Monna, T. Sasaki, T. Araki and M. Yano : *Hd3a*, a rice ortholog of the Arabidopsis *FT* gene, promotes transition to flowering downstream of *Hd1* under short-day conditions. *Plant Cell Physiol*, **43**, 1096-1105 (2002)
- Laurie, D. A. : Comparative genetics of flowering time. *Plant Mol. Biol.*, **35**, 167-177 (1997)
- Levy, Y. Y. and C. Dean : The transition to flowering. *Plant Cell*, **10**, 1973-1989 (1998)
- Lin, Y. R., K. F. Schertz and A. H. Paterson : Comparative analysis of QTLs affecting plant height and maturity across the Poaceae, in reference to an interspecific sorghum population. *Genetics*, **141**, 391-411 (1995)
- Ohshima, I., F. Kikuchi, K. Odaka, K. Nomura, K. Tamura, H. Kato and R. Ikeda : Linkage analysis of a photoperiod-sensitive gene *Se-1* with neighboring loci in rice. *Intl. Rice Res. Notes*, **21**, 13 (1996)
- Ohshima, I., F. Kikuchi, Y. Watanabe and C. Asahi : Genetic analysis of heading time in a cross between two indica varieties with inhibitor genes for photoperiod sensitivity. *Jpn. J. Breed.*, **43**, 101-106 (1993)
- Okumoto, Y., and T. Tanisaka : Trisomic analysis of a strong photoperiod-sensitivity gene *E1* in rice (*Oryza sativa* L.). *Euphytica*, **95**, 301-307 (1997)
- Okumoto, Y., T. Tanisaka and H. Yamagata : Genotypic difference in response to light interruption in Japanese rice varieties. In *Rice genetics II*, pp. 778-780, International Rice Research Institute, Manila, the Philippines (1991a)
- Okumoto, Y., T. Tanisaka and H. Yamagata : Heading-time genes of the rice varieties grown in south-west region in Japan. (In Japanese, with English abstract.) *Jpn. J. Breed.*, **41**, 135-152 (1991b)
- Okumoto, Y., T. Tanisaka and H. Yamagata H. : Heading-time genes of the rice varieties grown in the Tohoku-Hokuriku region in Japan. (In Japanese, with English abstract.) *Jpn. J. Breed.*, **42**, 121-135 (1992)
- Paterson, A. H., Y. R. Lin, Z. Li and K. F. Schertz, J. F. Doebley, S. R. M. Pinson, S. C. Liu, J. W. Stansel and J. E. Irvine : Convergent domestication of cereal crops by independent mutations at corresponding genetic loci. *Science*, **269**, 1714-1718 (1995)
- Piñeiro, M. and G. Coupland : The control of flowering time and floral identity in Arabidopsis. *Plant Physiol.*, **177**, 1-8 (1998)
- Poonyarit, M., D. J. Mackill and B. S. Vergara : Genetics of photoperiod sensitivity and critical daylength in rice. *Crop Sci.*, **29**, 647-652 (1989)
- Rota, M. L. and M. E. Sorrells : Comparative DNA sequence analysis of mapped wheat ESTs reveals the complexity of genome relationships between rice and wheat. *Funct Integr Genomics*, **4**, 34-46 (2004)
- Sano, Y. : A dominant suppressor for the photoperiod sensitivity gene, *Se1* detected in a photoperiod insensitive cultivar of *Indica* type. *Rice Genet. Newsl.* **7** : 103-105 (1990)
- Sano, Y. 1992. Genetic comparisons of chromosome 6

- between wild and cultivated rice. Jpn. J. Breed. **42** : 561-572.
- 23) Simpson, G. G., A. R. Gendall and C. Dean : When to switch to flowering. Annu. Rev. Cell Dev. Biol., **99**, 519-550 (1999)
 - 24) Sorrells, M. E., M. L. Rota, C. E. Bermudez-Kandianis, R. A. Greene, R. Kantety, J. D. Munkvold, Miftahudin, A. Mahmoud, X. Ma, P. J. Gustafson, L. L. Qi, B. Echalié, B. S. Gill, D. E. Matthews, G. R. Lazo, S. Chao, O. D. Anderson, H. Edwards, A. M. Linkiewicz, J. Dubcovsky, E. D. Akhunov, J. Dvorak, D. Zhang, H. T. Nguyen, J. Peng, N. L. V. Lapitan, J. L. Gonzalez-Hernandez, J. A. Anderson, K. Hossain, V. Kalavacharla, S. F. Kianian, D. W. Choi, T. J. Close, M. Dilbirligi, K. S. Gill, C. Steber, M. K. Walker-Simmons, P. E. McGuire and C. O. Qualset : Comparative DNA sequence analysis of wheat and rice genomes. Genome research, **13**, 1818-1827 (2003)
 - 25) Takahashi, Y., A. Shomura, T. Sasaki and M. Yano : *Hd6*, a rice quantitative trait locus involved in photoperiod sensitivity, encodes the α subunit of protein kinase CK2. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **98**, 7922-7927 (2001)
 - 26) Tsai, K. H. : Gene loci and alleles controlling the duration of basic vegetative growth of rice. In Rice genetics, pp. 339-349, IRRI, Manila, the Philippines (1986)
 - 27) Vergara, B. S. and T. T. Chang : The flowering response of the rice plant to photoperiod. 4th ed., IRRI, Manila, the Philippines (1985)
 - 28) Yamagata, H., Y. Okumoto and T. Tanisaka : Analysis of genes controlling heading time in Japanese rice. In Rice Genetics, pp. 351-359, IRRI, Manila, The Philippines (1986)
 - 29) Yano, M., Y. Katayose Y, M. Ashikari, U. Yamanouchi, L. Monna, T. Fuse, T. Baba, K. Yamamoto, Y. Umehara, Y. Nagamura and T. Sasaki : *Hd1*, a major photoperiod sensitivity quantitative trait locus in rice, is closely related to the Arabidopsis flowering time gene *CONSTANS*. Plant Cell, **12**, 2473-2483 (2000)
 - 30) Yano, M., Y. Harushima, Y. Nagamura, N. Kurata, Y. Minobe and T. Sasaki : Identification of quantitative trait loci controlling heading date in rice using a high-density linkage map. Theor. Appl. Genet., **95**, 1025-1032 (1997)
 - 31) Yin, X., M. J. Kropff and M. A. Ynalvez : Photoperiodically sensitive and insensitive phases of preflowering development in rice. Crop Sci., **37**, 182-190 (1997)
 - 32) Yokoo, M., and F. Kikuchi : Monogenic control of basic vegetative phase and photoperiod-sensitive phase in rice. (In Japanese, with English abstract.) Jpn. J. Breed., **32**, 1-8 (1982)